

## ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID DARI DAUN TUMBUHAN KEREHAU (*Callicarpa longifolia* Lam.)

**Subur P. Pasaribu, Erwin dan Putri Istianti**

Program Studi Kimia FMIPA Universitas Mulawarman  
Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua Samarinda, 75123

### ABSTRACT

The flavonoid had been isolated from ethyl acetate extract of Kerehau leaf (*Callicarpa longifolia* Lam.). Extraction was done by maceration and fraction method. Isolation of pure compound was done by chromatographic flash column. The resulted of isolated flavonoid was yellow greeness powder and 174-178°C melting point. Based on data IR can be conclude that isolated compound is flavonol group. Effect of toxicity from isolate identified with presentage of prawn larva (BSLT method) and counted by probit analysis (LC<sub>50</sub>). The results of this test showed that the the isolate was very toxic with LC<sub>50</sub> value of 26,8824 ppm.

**Keywords:** Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam.), Isolation, Flavonoid, BSLT

### A. PENDAHULUAN

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Salah satu tumbuhan yang mengandung senyawa flavonoid adalah tumbuhan *Callicarpa longifolia* Lam. yang berasal dari famili *Verbeneceae* dan dikenal dengan nama umum Kerehau. Tumbuhan ini merupakan kelompok tumbuhan penghuni hutan tropis yang tersebar di sebagian wilayah Indonesia terutama hutan Kalimantan. Kerehau merupakan tumbuhan berbentuk semak dengan tinggi 1-5 m. Daun kerehau berbentuk kecil seperti pisau dengan ukuran 13 x 5 cm, berbulu pendek padat dan bergerigi (Setyowati, 2000).

### B. METODOLOGI PENELITIAN

#### 2.1. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penekitian ini adalah corong Pisah, Rotary Evaporator, Kromatografi kolom flash, Spektrofotomer FTIR, seperangkat alat destilasi, Fischer John Melting Point, alat-alat gelas, lampu UV, neraca analitis dan botol vial.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam.), metanol teknis, n-Heksan destilat, etil asetat destilat, kloroform p.a, etil asetat p.a, aseton p.a, HCl<sub>(p)</sub>, serbuk Mg, Ce (IV) sulfat, silika gel merck 70-230 mesh, air laut, larva udang *Artemia salina* Leach dan plat KLT Merck Keisegel 60 F<sub>254</sub>

#### 2.2. Ekstraksi Daun Kerehau

Sebanyak 857,70 gr serbuk daun Kerehau diekstraksi secara maserasi dengan pelarut metanol. Filtrat yang diperoleh dari hasil maserasi kemudian difraksinasi secara berturut-turut dengan menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat.

#### 2.3. Isolasi dan identifikasi fraksi etil asetat daun kerehau

Pemisahan senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak etil asetat dilakukan kromatografi kolom

Secara etnofarmakologi dan pemakaian tanaman obat suku Dayak Tunjung Kalimantan Timur, kerehau memiliki beberapa khasiat obat yaitu akar digunakan untuk mengobati sakit perut, masuk angin, bengkak dan diare. Daunnya digunakan sebagai bedak pembersih wajah dan obat malaria.

Uji fitokimia terhadap daun tumbuhan Kerehau menunjukkan positif flavonoid sehingga perlu dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa yang terkandung dalam daun tumbuhan Kerehau. Pemisahan dan pemurnian senyawa dilakukan dengan teknik kromatografi kolom flash.

flash dengan menggunakan silika gel G 60 (70-230 mesh) sebagai fase diam. Eluen yang digunakan n-heksana dan etil asetat (1:9) yang ditingkatkan kepolarannya hingga 100%. Eluat hasil kromatografi yang diperoleh ditampung dalam botol vial masing-masing 50 mL. Dari hasil kromatografi kolom flash yang telah dilakukan diperoleh eluat dengan 50 vial dan selanjutnya dimonitor dengan KLT menggunakan eluen n-heksana : etil asetat (4,5:5,5). Masing-masing vial dimonitor di bawah sinar UV 254 nm, 366 nm dan pereaksi penampak noda serum sulfat. Vial-vial yang memberikan pola noda yang sama kemudian dikelompokkan menjadi satu fraksi, sehingga dihasilkan 9 fraksi gabungan. Pada fraksi B (vial 5-8) menghasilkan endapan, sehingga dilakukan pemisahan terhadap fraksi B menjadi B1 ( filtrat) dan B2 (endapan). Setelah dikeringanginkan fraksi B2 2 menghasilkan serbuk yang selanjutnya dimurnikan melalui rekristalisasi sehingga diperoleh serbuk kuning kehijauan.

Kemurnian senyawa hasil isolasi diuji dengan pola noda KLT dan titik leleh. Identifikasi senyawa hasil isolasi dilakukan dengan spektrofotometri IR. Uji toksisitas isolat dilakukan dengan menggunakan

metode BSLT dan diidentifikasi dengan analisis probit ( $LC_{50}$ )

### C. HASIL PENELITIAN

#### 3.1. Uji Kemurnian Senyawa Hasil Isolasi

Fraksi B2 menghasilkan serbuk yang selanjutnya dimurnikan melalui rekristalisasi sehingga diperoleh serbuk kuning kehijauan seberat 6,2 mg. Hasil rekristalisasi tersebut diuji kemurniannya dengan

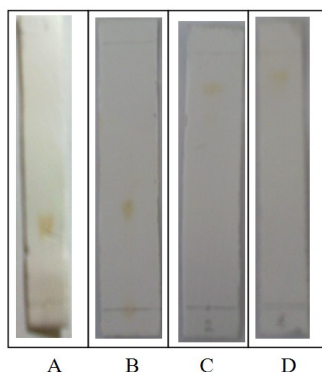
kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan eluen yang berbeda yaitu heksana : etil asetat (1:1) ; kloroform : etil (6:4) ; n-heksana: aseton (1:1); kloroform 100 % dengan nilai  $R_f$  seperti yang disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Uji kemurnian senyawa hasil isolasi dengan perbandingan berbagai eluen

n-Heksana	Etil asetat	Aseton	Kloroform	$R_f$	KLT
			100%	0,30	A
1		1		0,50	B
	4		6	0,87	C
1	1			0,92	D

Hasil KLT menunjukkan noda tunggal pada lampu UV 254 nm dan berwarna kuning setelah diberi pereaksi penampak noda serum sulfat pada plat KLT. Uji kemurnian dengan pengukuran titik leleh

memberikan nilai 174-178°C. Dari hasil analisa diketahui trayek (*range*) suhu leleh yaitu 4°C mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi belum murni.



**Gambar 1.** Kromatogram senyawa hasil isolasi dengan perbandingan berbagai eluen

Hasil uji fitokimia yang dilakukan terhadap senyawa hasil isolasi dengan serbuk Mg dan HCl memperlihatkan warna kuning kehijauan. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi tersebut adalah senyawa golongan flavonoid.

#### 3.2. Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi

Spektrum IR senyawa hasil isolasi memberikan informasi adanya puncak serapan gugus hidroksil pada bilangan gelombang 3409,91  $cm^{-1}$ . Gugus hidroksil ini merupakan regang -OH terikat (dapat berikatan hidrogen), OH terikat terlihat pada bilangan gelombang 3570-3200  $cm^{-1}$  yang membentuk pita lebar dengan intensitas yang kuat (John Coates, 2000). Dugaan ini diperkuat oleh munculnya serapan ulur C-OH sekunder pada bilangan gelombang 1037,63  $cm^{-1}$  (990-1060  $cm^{-1}$ ). Serapan pada spektrum 1280,65-1164,92  $cm^{-1}$  menunjukkan adanya ulur C-O.

Pita serapan pada bilangan gelombang 2927,74 dan 2854,45  $cm^{-1}$  menunjukkan adanya regang -C-H alifatik dan diperkuat dengan munculnya serapan pada

1380,94  $cm^{-1}$  memberikan kejelasan bahwa terdapat gugus metil

(-CH<sub>3</sub>) dan serapan pada 1458,08 yang menunjukkan adanya -CH<sub>2</sub>- alifatik. Adanya regang -C=O karbonil ditunjukkan oleh serapan pada bilangan gelombang 1658,67  $cm^{-1}$ . Pita serapan pada bilangan gelombang 1600,81  $cm^{-1}$  mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa aromatik, diperkuat dengan munculnya serapan pada bilangan gelombang 825,48  $cm^{-1}$  mengindikasikan adanya dua H yang bertetangga dalam cincin aromatik

#### 3.3. Uji Toksisitas Senyawa Hasil Isolasi dengan BSLT

Berdasarkan hasil analisis diketahui  $LC_{50}$  dari isolat B2 yaitu 26,8824 ppm dan termasuk dalam kategori sangat toksik. Hal ini mengindikasikan bahwa isolat B2 mempunyai potensi senyawa bioaktif yang sangat tinggi. Hal tersebut berkaitan dengan adanya kandungan flavonoid sebagai senyawa aktif yang terdapat dalam isolat B2.

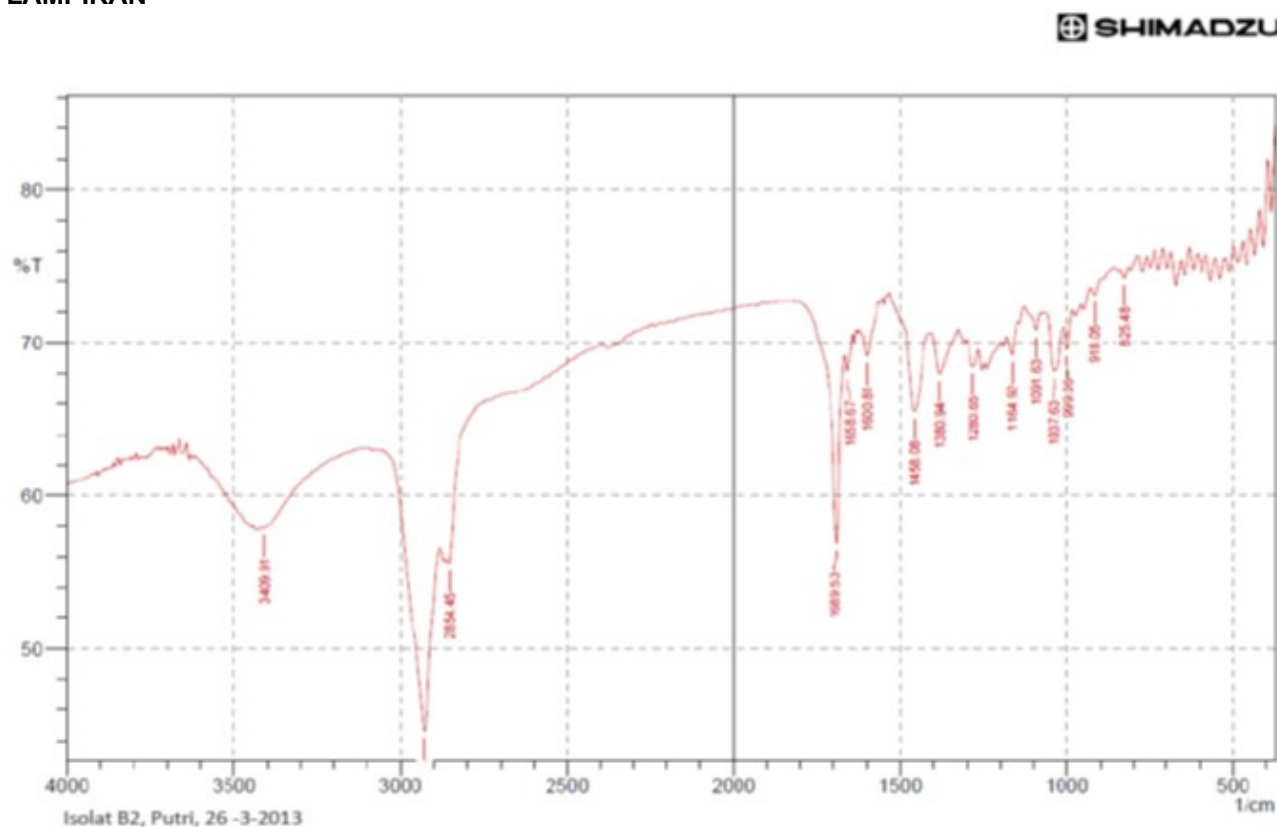
#### D. KESIMPULAN

1. Golongan senyawa flavonoid yang bersumber dari fraksi etil asetat daun kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam.) diduga adalah golongan flavonol dengan titik leleh 4°C dan IR  $\nu_{\text{maks}}/\text{cm}^{-1}$  : 825,50; 918,50; 999,03; 1037,63; 1691,63; 1164,92; 1280,65; 1380,94; 1458,08; 1600,81; 1653,67; 1689,53, 2654,45; 2917,74, 3489,91.
2. Senyawa flavonoid yang bersumber dari fraksi etil asetat daun kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam.) memiliki tingkat toksisitas yang sangat tinggi terhadap larva udang *Artemia salina* Leach, ditunjukkan dengan nilai  $\text{LC}_{50}$  yaitu 26,8824 ppm

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Fitriya. 2011. *Flavonoid Kuersetin dari Tumbuhan Benalu Teh (Scurulla atropurpurea BL. Dans)*. Jurnal Penelitian Sains Universitas Sriwijaya, 14 (4C), 14408
2. Fitrya, Lenny Anwar, dan Fitria Sari. 2009. *Identifikasi Flavonoid dari Buah Tumbuhan Mempelas*. Jurnal Penelitian Sains Universitas Sriwijaya, 12 (3C), 12035
3. John, Coates. 2000. Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach, in *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, eds. J. Workman, A.W. Sprinsteen. New York : Academic Press
4. Setyowati, Fransisca Murti. 2010. *Artikel Etnofarmakologi dan Pemakaian Tanaman Obat Suku Dayak Tunjung Kalimantan Timur*. Bogor : Media Litbang Kesehatan Volume XX No.3
5. Sudjadi, M.S. 1983. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Bandung : Ghalia Indonesia

## LAMPIRAN



Gambar 2. Spektrum inframerah isolat B2

Tabel 2. Karakteristik gugus-gugus dari spektrum IR senyawa hasil isolasi B

Bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ )		Bentuk pita	Intensitas	Gugus Fungsi
Pada spektra	Pada pustaka			
3409,91	3570-3200	Melebar	Medium	$\nu$ O-H (ikatan hidrogen antarmolekul)
2927,74	2935-2915	Tajam	Kuat	$\nu$ C-H pada $\text{CH}_3$
2854,45	2865-2845	Melebar	Lemah	$\nu$ C-H pada $\text{CH}_2$
1689,53	1690-1650	Tajam	Kuat	$\nu$ C=O (gugus karbonil)
1658,67		Tajam	Lemah	
1600,81	1615-1580	Tajam	Medium	$\nu$ C=C-C aromatik
1458,08	1485-1445	Tajam	Medium	$\gamma$ C-H pada $(\text{CH}_2)$
1380,94	1385-1380	Tajam	Medium	$\gamma$ C-H pada $(\text{CH}_3)$
1280,65	1300-1000	Tajam	Lemah	$\gamma$ C-O
1164,92				
1091,64	1140-1070	Tajam	Lemah	$\gamma$ C-O-C
1037,63	1060-990	Tajam	Lemah	$\nu$ C-OH (alkohol sekunder)
825,48	860-800	Tajam	Lemah	$\gamma$ C=C-H aromatik

Sumber : John Coates, 2000